

## 基础研究

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.003472

Homer1b/c“支架”在  $CTNND2^{-/-}$  自闭症模型鼠中的作用研究张翰鸿<sup>1</sup>, 王 岩<sup>1</sup>, 吕明其<sup>2</sup>, 聂 应<sup>1</sup>, 蔡锦雯<sup>1</sup>, 王楚萱<sup>1</sup>, 李英博<sup>1</sup>

(1.重庆医科大学神经科学研究中心,重庆 400016;2.重庆医科大学实验教学管理中心人体机能实验室,重庆 400016)

**【摘要】目的:**观察  $CTNND2^{-/-}$  自闭症模型鼠前额叶皮层中支架蛋白荷马 1b/c (homer protein homolog 1b and 1c, Homer1b/c) 与三磷酸肌醇受体 (inositol 1,4,5-trisphosphate receptor, IP3R)、代谢型谷氨酸受体 5 (metabotropic glutamate receptor 5, mGluR5) 和香克 3 蛋白 (sh3 and multiple ankyrin repeat domains 3, Shank3) 蛋白相关复合体的变化;前额叶皮层中常见氨基酸的变化,发现自闭症模型鼠中可能参与疾病发生的关键靶点。**方法:**蛋白免疫印迹法 (Western blot, WB) 法检测  $CTNND2^{-/-}$  自闭症模型鼠前额叶皮层中支架蛋白 Homer1b/c、突触后密度蛋白-95 (postsynaptic density protein 95, PSD-95)、突触素蛋白 (synaptophysin, SYP)、囊泡谷氨酸转运体 1 (vesicular glutamate transporter 1, vGluT1) 的表达的变化;通过免疫荧光 (immunofluorescence, IF) 观察 Homer1b/c 与 IP3R、mGluR5 和 Shank3 蛋白的表达与共定位;免疫共沉淀 (co-immunoprecipitation, CO-IP) 技术分别观察 Homer1b/c 与 IP3R、mGluR5 或 Shank3 结合的变化;使用液相色谱 (liquid chromatography, LC) 观察前额叶皮层中常见氨基酸的变化。**结果:**与对照组相比,  $CTNND2^{-/-}$  模型鼠前额叶皮层中 Homer1b/c ( $P=0.003$ )、PSD-95 ( $P=0.003$ ) 以及 SYP 蛋白 ( $P=0.046$ ) 的表达均明显降低;同时, Homer1b/c 与 IP3R、mGluR5、Shank3 蛋白相互之间结合减少;前额叶皮层中常见的兴奋性神经递质谷氨酸 (glutamate, Glu) 和抑制性神经递质  $\gamma$ -氨基丁酸 ( $\gamma$ -aminobutyric acid, GABA) 的表达无明显变化 ( $P=0.366$ ,  $P=0.355$ ), 组氨酸 (histidine, His) ( $P=0.036$ ), 酪氨酸 (tyrosine, Tyr) ( $P=0.030$ ) 表达则明显增高。**结论:**  $CTNND2^{-/-}$  自闭症模型鼠中 Homer1b/c 蛋白低表达,同时 Homer1b/c 与 IP3R、Shank3、mGluR5 蛋白复合物的形成减少,并推测低表达的 Homer1b/c 可能是导致自闭症神经元突触异常发育的关键靶点。

**【关键词】**Homer1b/c; 自闭症谱系障碍;  $CTNND2$  基因敲除鼠**【中图分类号】**R338**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2024-02-28Role of scaffolding protein Homer protein homolog 1b and 1c in a  $CTNND2^{-/-}$  mouse model of autismZhang Hanhong<sup>1</sup>, Wang Yan<sup>1</sup>, Mingqi Lü<sup>2</sup>, Nie Ying<sup>1</sup>, Cai Jinwen<sup>1</sup>, Wang Chuxuan<sup>1</sup>, Li Yingbo<sup>1</sup>

(1. Neuroscience Research Center, Chongqing Medical University; 2. Laboratory of Human Body Function, Experimental Teaching Management Center, Chongqing Medical University)

**【Abstract】Objective:** To observe the changes in scaffolding protein Homer protein homolog 1b and 1c (Homer1b/c), inositol 1,4,5-trisphosphate receptor (IP3R), metabotropic glutamate receptor 5 (mGluR5), sh3 and multiple ankyrin repeat domains 3 (Shank3) protein-related complexes, and common amino acids in the prefrontal cortex of  $CTNND2^{-/-}$  mice with autism, and to investigate the key targets that may be involved in the development of the disease in mice with autism. **Methods:** Western blot (WB) was used to measure the changes in the protein expression levels of Homer1b/c, postsynaptic density-95 (PSD-95), synaptophysin (SYP), and vesicular glutamate transporter 1 (vGluT1) in the prefrontal cortex of  $CTNND2^{-/-}$  mice with autism; immunofluorescent (IF) staining was used to investigate the expression and colocalization of Homer1b/c with IP3R, mGluR5, or Shank3 proteins; co-immunoprecipitation (CO-IP) was used to observe the binding of Homer1b/c to IP3R, mGluR5 or Shank3; liquid chromatography (LC) was used to analyze the changes in common amino acids in the prefrontal cortex of mice. **Results:** Compared with the control group, the  $CTNND2^{-/-}$  model mice had significant reductions in the expression of Homer1b/c ( $P=0.003$ ), PSD-95 ( $P=0.003$ ), and SYP ( $P=0.046$ ) in the prefrontal cortex and a significant reduction in the binding of Homer1b/c to IP3R, mGluR5, and Shank3 proteins, and there were no significant changes in the expression levels of the common excitatory neu-

作者介绍:张翰鸿, Email: 13772807364@163.com,

研究方向:ASD发病机制。

通信作者:李英博, Email: liyingbo@cqmu.edu.cn。

基金项目:重庆市自然科学基金面上资助项目 (编号: cstc2021jcyj-msxmX0065)。

优先出版: <https://link.cnki.net/urlid/50.1046.r.20240418.1518.024>

(2024-04-22)

rotransmitter glutamate and the inhibitory neurotransmitter  $\gamma$ -aminobutyric acid in the prefrontal cortex ( $P=0.366$  and  $0.355$ ), while there were significant increases in the expression levels of histidine ( $P=0.036$ ) and tyrosine ( $P=0.030$ ). **Conclusion:** There is low expression of Homer1b/c protein in the *CTNND2*<sup>-/-</sup> mouse model of autism, and there is a reduction in the formation of Homer1b/c complexes with IP3R, Shank3, and mGluR5 proteins. It is speculated that low-expression Homer1b/c may be a key target for abnormal synaptic development in autism.

**[Key words]** Homer protein homolog 1b and 1c; Autism Spectrum Disorder; *CTNND2*<sup>-/-</sup> mice

自闭症谱系障碍 (autism spectrum disorder, ASD) 是一种严重的先天性中枢神经系统发育障碍, 其核心症状包括语言和沟通障碍、社交互动障碍、兴趣限制和重复行为<sup>[1]</sup>。目前对自闭症的治疗仍没有有效的方法, 但其发病率却逐年增高, 因此探寻自闭症的发病机制和防治靶点具有重要社会意义。

目前研究认为, 自闭症的病理改变主要表现为前额叶皮层神经元异常增多导致局部神经回路信息传递紊乱<sup>[2]</sup>; 神经系统早期发育过程中神经元迁移异常和神经元排列异常; 兴奋—抑制性神经网络的失衡等。大部分研究均认为, 神经元突触和树突棘的异常发育是自闭症共有的病理表现, 在自闭症的发病和行为异常中起着关键的作用。本课题组前期构建了 *CTNND2*<sup>-/-</sup> 自闭症模型鼠, 研究发现, *CTNND2*<sup>-/-</sup> 鼠前额叶皮层神经元树突分支数和树突棘密度显著降低, 当改善其异常发育后能够减轻模型鼠的自闭症样行为<sup>[3]</sup>。因此发现导致神经元突触异常发育的关键靶点对自闭症的后续研究非常重要。

荷马 1 (homer protein homolog 1, Homer1) 蛋白属于荷马 (homer scaffold proteins, Homer) 蛋白家族, 是中枢神经系统突触后膜中的一类功能性支架蛋白。Homer1 分为短链型如荷马 1a (homer protein homolog 1a, Homer1a) 和长链型如荷马 1b/c (homer protein homolog 1b and 1c, Homer1b/c) 2 种类型<sup>[4]</sup>。长链型 Homer1b/c, 其 C 末端可以形成 CC 结构, 并由此与其他功能蛋白, 如代谢型谷氨酸受体 5 (metabotropic glutamate receptor 5, mGluR5)、三磷酸肌醇受体 (inositol 1, 4, 5-trisphosphate receptor, IP3R)、骨架蛋白香克 3 (sh3 and multiple ankyrin repeat domains 3, Shank3) 等结合形成支架, 同时激活相应蛋白及其下游通路, 参与调节细胞生长并有助于增强突触可塑性<sup>[5]</sup>。但在 *CTNND2*<sup>-/-</sup> 自闭症模型鼠中, 突触的异常发育是否与 Homer 这一关键的支架蛋白异常表达相关, 仍有待研究。

同时, 目前研究也认为神经系统的代谢异常也

可能是导致神经元异常发育的原因<sup>[6]</sup>。有研究发现, 自闭症模型鼠中, 同样存在着异常的神经递质和代谢产物的释放<sup>[7-8]</sup>, 且这可能作为自闭症后续诊断的生物学指标, 但 *CTNND2*<sup>-/-</sup> 模型鼠是否同样存在此异常情况, 仍有待探究。

本研究旨在观察 *CTNND2*<sup>-/-</sup> 自闭症模型小鼠前额叶皮层中 Homer1b/c 这一关键的支架蛋白及其相关蛋白复合物的形成变化, 同时检测模型小鼠前额叶皮层中氨基酸的表达, 为自闭症后续的研究探寻新的作用靶点<sup>[9]</sup>。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

抗-Homer1b/c 抗体 (购自 Santa Cruz Biotechnology, SC-25271), 抗-mGluR5 抗体 (购自 abcam, ab76316); 抗-IP3R 抗体 (购自 abcam, ab108517); 抗-Shank3 (购自 cell signaling, 64555); 抗- $\beta$ -actin 抗体 (购自 Affinity Biosciences, AF7018); 抗-vGluT1 抗体 (购自 abcam, ab227805); 抗-SYP 抗体 (购自 abcam, ab32127); 抗-PSD-95 (购自 abcam, ab238135); Western blot 专用二抗 (购自 Beyonotime, 中国); Western blot 化学发光 HRP 底物 (购自 Millipore, 美国); 5% 牛血清白蛋白 (BSA) (购自 Beyonotime, 中国); 荧光显微镜 (购自 Leica, 德国); 共聚焦显微镜 (购自 Leica, 德国); Protein A/G Magnetic Beads (购自 MCE, 美国); Western 及 IP 裂解液 (购自 Beyonotime, 中国)。

### 1.2 实验方法

**1.2.1 动物模型** 本研究符合作者所在单位实验动物伦理委员会所制定的伦理学标准 (批准号: SYXK2022-0016)。CTNND2 纯合型 (*CTNND2*<sup>-/-</sup>) 小鼠 (购自赛业生物, 中国)。养殖动物的设施温度范围保持在 22~24 °C, 相对湿度范围为 50%~60%。照明设置为交替明暗周期, 为小鼠提供安静的环境, 并自由进食和饮水。并选取和其年龄一致的 C57 小鼠作为对照 (购自赛业生物, 中国)。

**1.2.2 蛋白免疫印记分析 (western blot, WB)** 用 BCA 法进行蛋白定量, 根据标准曲线计算出样品的浓度并计算上样量。配置分离胶和浓缩胶: 将灌胶玻璃板洗净, 晾干固定, 配制 7.5%~10% 分离胶 10 mL, 用 95% 乙醇覆盖胶面, 室温放置约 20 min; 倒掉乙醇, 用吸水纸吸其中残留的液体。加入 5% 浓缩胶直至溢出, 并插上梳子用以制造上样孔。室温放

置约 15 min 将样品轻轻加至凝胶孔中,电泳仪恒压 90 V 通过浓缩胶与分离胶。蛋白 Marker 电泳到分离胶适当位置,可结束电泳。切胶获得目的胶,由阴极侧开始,按照海绵垫片→层滤纸→样品胶→PVDF 膜→滤纸→海绵垫片的顺序放入含有电转液的电泳槽中,恒流 250 mA,根据分子量大小不同选择合适时间;然后进行封闭、一抗孵育、洗膜、二抗孵育、洗膜,最后曝光,用 Image J 软件分析灰度值。

1.2.3 免疫荧光(immunofluorescence, IF) 使用冰冻切片机将前额叶皮层切割成 15  $\mu\text{m}$  厚的冠状切片,用于后续实验。将切片浸泡在 0.5% Triton-X 100 中孵育 1 h,然后在室温下使用 5% 牛血清白蛋白(BSA)进行封闭 2 h。随后,在 4  $^{\circ}\text{C}$  将切片与稀释过的一抗过夜孵育。次日,用磷酸盐缓冲盐水(PBS)洗涤切片,然后与荧光二抗孵育 1 h。最后,进行 DAPI 染色。使用荧光显微镜和共聚焦显微镜观察,成像。

1.2.4 免疫共沉淀(co-immunoprecipitation, CO-IP) 用 Western 及 IP 裂解液裂解组织,并取上清。将磁珠充分混悬,取 25  $\mu\text{L}$  磁珠,置于 1.5 mL EP 管中,加入 400  $\mu\text{L}$  结合/洗涤缓冲液,充分混悬,置于磁力架,磁性分离,弃上清;重复以上洗涤步骤 2 次。使用结合/洗涤缓冲液将抗体稀释至终浓度为 30  $\mu\text{g/mL}$ 。将稀释好的 400  $\mu\text{L}$  抗体加入处理好的磁珠中,充分混悬,置于翻转混合仪孵育(室温,30 min;4  $^{\circ}\text{C}$ , 2 h),收集磁珠,上清液收集于新的 EP 管中,以备后续使用。加入 400  $\mu\text{L}$  结合/洗涤缓冲液,充分混悬磁珠,弃上清;重复洗涤 4 次。加入 400  $\mu\text{L}$  抗原样品,充分混悬,置于翻转混合仪孵育(室温,30 mins;4  $^{\circ}\text{C}$ , 2 h),弃上清。使用 400  $\mu\text{L}$  结合/洗涤缓冲液充分重悬磁珠,弃上清;重复洗涤 4 次;分离磁珠,弃上清,向磁珠中加入 50  $\mu\text{L}$  1 $\times$  SDS-PAGE Loading Buffer 混合均匀,95  $^{\circ}\text{C}$  加热 5 min。收集上清,进行 SDS-PAGE 检测

1.2.5 液相色谱(liquid chromatography, LC) 称量适量的 22 种氨基酸标准溶液使用甲醇制备单一标准母液。取适量的每种母液制备混合标准溶液,用 10% 甲酸甲醇-水(1:1) 稀释至适当浓度,制备工作标准溶液。准确吸取适量的样品放入 2 mL 离心管中,加入 600  $\mu\text{L}$  的 10% 甲酸甲醇-水溶液,振荡 30 s;以 12 000 r/min,4  $^{\circ}\text{C}$  离心 5 min,取 10  $\mu\text{L}$  上清液,加入 990  $\mu\text{L}$  的 10% 甲酸甲醇-水溶液,振荡 30 s,取 100  $\mu\text{L}$  稀释后的样品,加入浓度为 10 ppb 的 Trp-d3 内标 100  $\mu\text{L}$ ,振荡 30 s,通过 0.22  $\mu\text{m}$  过滤膜过滤上清液,将滤液加入检测瓶中。

### 1.3 统计学方法

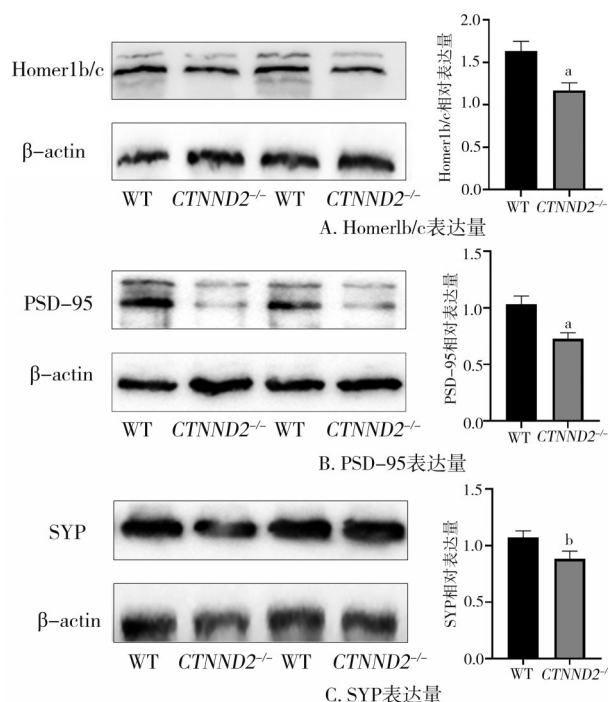
实验数据将使用 GraphPad Prism 8.0 软件进行分析。定量数据以均数 $\pm$ 均方差( $\bar{x} \pm s$ )表达。两个独立样本  $t$  检验用于比较 2 个样本之间的数据。检验水准  $\alpha=0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 CTNND2<sup>-/-</sup>小鼠前额叶皮层中突触发育相关蛋白表达异常

WB 结果显示(图 1A):CTNND2<sup>-/-</sup>组小鼠与 WT 组小鼠相比较,其前额叶皮层中 Homer1b/c 蛋白的表达水平均呈下

降趋势( $-0.464 \pm 0.147$ ,  $t=3.158$ ,  $P=0.003$ )。同时,观察发现,CTNND2<sup>-/-</sup>组小鼠前额叶皮层中突触可塑性相关蛋白 PSD-95 表达水平( $-0.333 \pm 0.103$ ,  $t=3.245$ ,  $P=0.003$ )明显低于 WT 组小鼠(图 1B);SYP 的表达( $-0.188 \pm 0.089$ ,  $t=2.102$ ,  $P=0.046$ )同样明显低于 WT 组小鼠(图 1C)。



注:a,与 WT 组相比较, $P<0.01$ ;b,与 WT 组相比较, $P<0.05$ , $n=5$ , $\bar{x} \pm s$

图 1 WB 实验观察 Homer1b/c、PSD-95 及 SYP 蛋白表达

### 2.2 Homer1b/c 与 IP3R、mGluR5 或 Shank3 形成的复合体减少

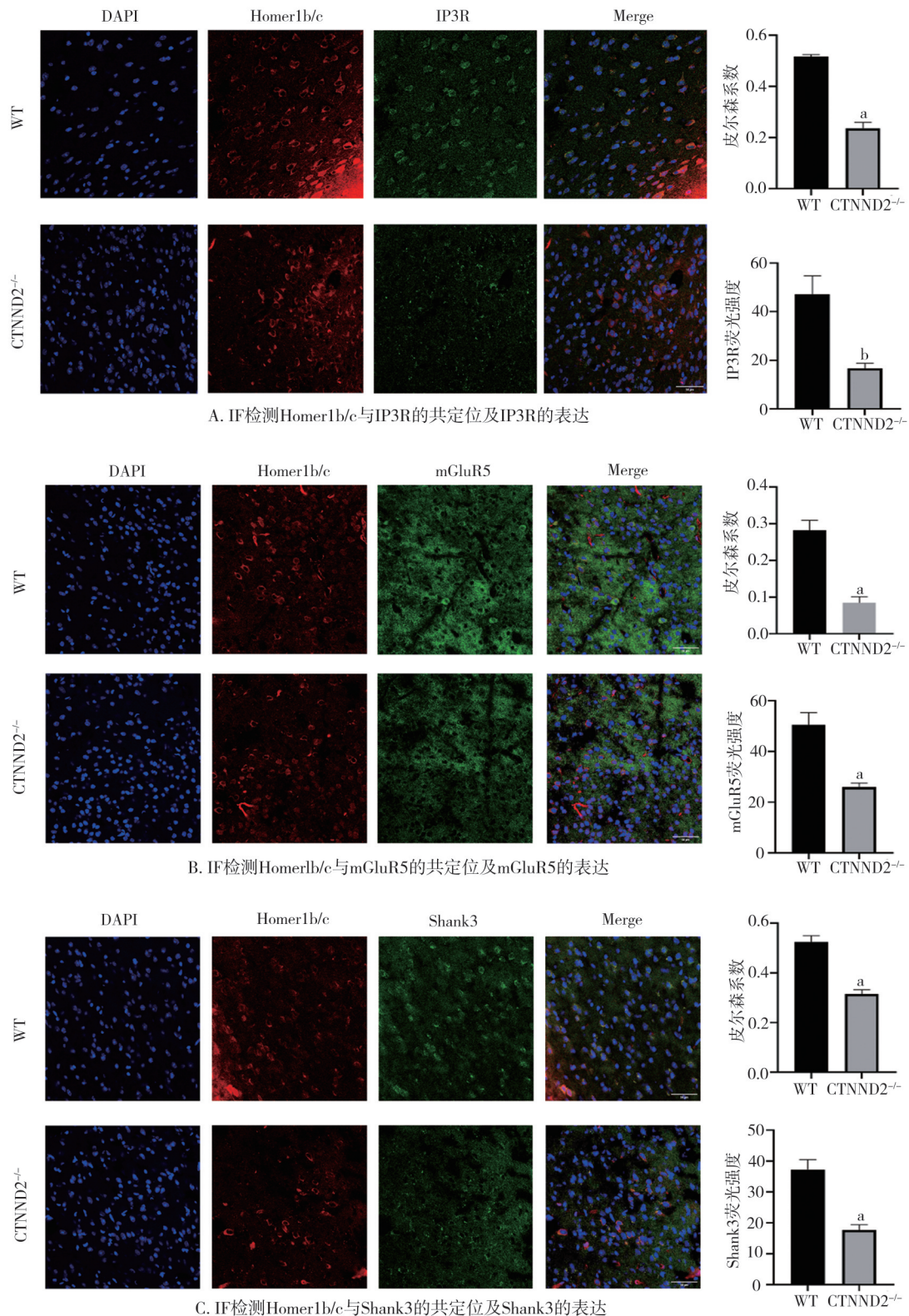
IF 结果显示(图 2A、B、C):CTNND2<sup>-/-</sup>组小鼠前额叶皮层中 IP3R ( $-30.430 \pm 7.915$ ,  $t=3.845$ ,  $P=0.002$ )、mGluR5 ( $-24.57 \pm 5.079$ ,  $t=4.838$ ,  $P<0.001$ )以及 Shank3 ( $-19.60 \pm 3.684$ ,  $t=5.320$ ,  $P<0.001$ )的荧光强度低于 WT 组小鼠。

同时,经 IF 共定位分析(图 2A、B、C):皮尔森(pearson correlation coefficient, Pearson's)系数发现,在 CTNND2<sup>-/-</sup>组小鼠其前额叶皮层中, Homer1b/c 与 IP3R ( $-0.280 \pm 0.025$ ,  $t=11.400$ ,  $P<0.001$ )、mGluR5 ( $-0.198 \pm 0.032$ ,  $t=6.181$ ,  $P<0.001$ )以及 Shank3 ( $-0.210 \pm 0.031$ ,  $t=6.851$ ,  $P<0.001$ )的 IF 共定位均有所减弱。提示 Homer1b/c 分别与 IP3R、mGluR5、Shank3 蛋白在 CTNND2<sup>-/-</sup>组小鼠前额叶皮层中低表达,且蛋白相互之间结合减少。

### 2.3 CTNND2<sup>-/-</sup>小鼠前额叶中 Homer1b/c 分别与 IP3R、Shank3、mGluR5 蛋白相互结合减弱

CO-IP 结果显示(图 3):较对照组小鼠,CTNND2<sup>-/-</sup>自闭症模型鼠前额叶皮层中 Homer1b/c 与 IP3R、Shank3、mGluR5 的相互作用均呈现减弱趋势。





注:a,与WT组相比较, $P < 0.001$ ,b,与WT组相比较, $P < 0.01$ , $n=3$ , $\bar{x} \pm s$

图2 IF实验显示Homer1b/c、IP3R、mGluR5、Shank3蛋白表达与定位

#### 2.4 CTNND2<sup>-/-</sup>组小鼠前额叶皮层氨基酸表达异常

LC结果显示(图4A、B):CTNND2<sup>-/-</sup>组小鼠与WT组小鼠相比较,其前额叶皮层中: $\gamma$ -氨基丁酸( $\gamma$ -aminobutyric acid,

GABA)、丝氨酸(serine, Ser)、谷氨酸(glutamate, Glu)的含量差异无统计学意义。但组氨酸(histidine, His) ( $3.902 \pm 1.368$ ,  $t=2.852$ ,  $P=0.036$ )与酪氨酸(tyrosine, Tyr) ( $3.384 \pm$

1.130,  $t=2.995$ ,  $P=0.0303$ ) 的表达则明显增高。WB 结果显示 (图 4C): 与 WT 组相比,  $CTNND2^{-/-}$  组小鼠前额叶皮层中囊泡谷氨酸转运体 1 (vesicular glutamate transporter 1, vGluT1) 表达明显提升 ( $0.234 \pm 0.107$ ,  $t=2.187$ ,  $P=0.035$ )。

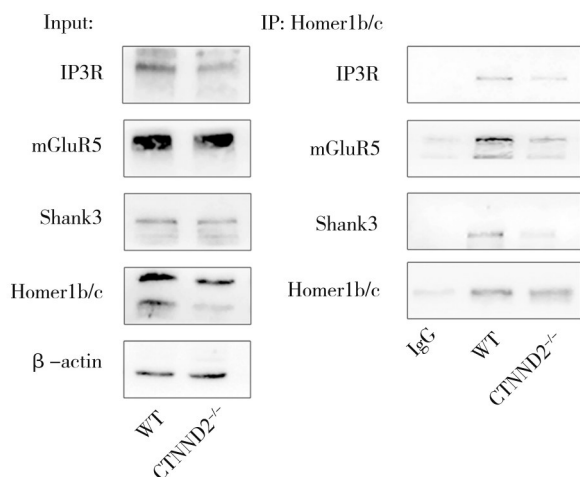
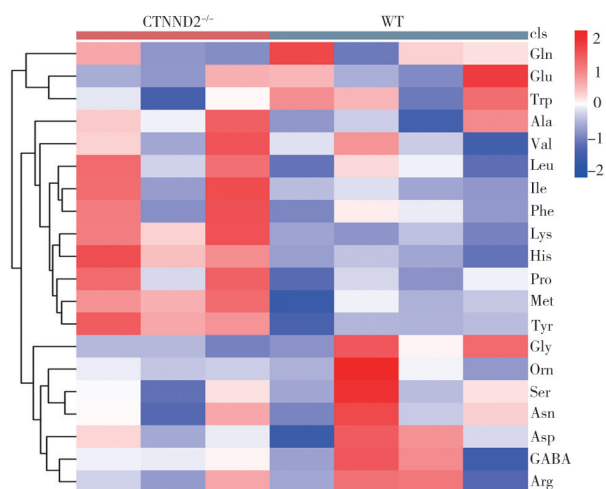
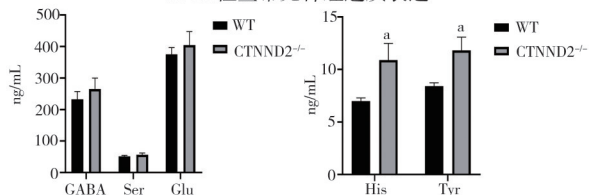


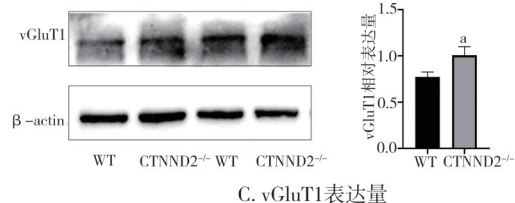
图3 Homer1b/c 与 IP3R、Shank3、mGluR5 蛋白表达量降低且相互作用减弱 ( $n=3$ )



A. LC 检查常见神经递质表达



B. 氨基酸类神经递质表达量



C. vGluT1 表达量

注: a, 与 WT 组相比较,  $P < 0.05$ , LC 检查  $n=3$ , WB 观察  $n=5$ ,  $\bar{x} \pm s$

图4 LC 和 WB 实验结果

### 3 讨论

自闭症是一类神经发育障碍性疾病, 研究认为突触发育异常是其重要致病因素, 因此发现自闭症中导致突触发育异常的蛋白及其靶点具有重要意义。

本实验中发现, 在自闭症模型鼠中, 位于前额叶皮层神经元中的 Homer1b/c 蛋白表达明显降低 (图 1)。Homer1b/c 为位于神经元突触后膜的支架蛋白, 属于 Homer 蛋白家族中的长链蛋白类型。目前认为, 长链型 Homer1b/c 蛋白是参与神经元可塑性的关键成分且能够通过其 EVH1 结构域与脑发育调节蛋白 Drebrin 和 Shank 蛋白相互作用, 进而促进神经元丝状足的形成和伸长<sup>[10]</sup>。长链型 Homer 蛋白与 Shank 的结合还可以促进 PSD95 蛋白的表达, 影响突触后致密斑的形成<sup>[11]</sup>。本研究中也确实发现,  $CTNND2^{-/-}$  自闭症小鼠前额叶中 PSD-95 及 SYP 明显低表达 (图 1), 说明 Homer1b/c 的低表达伴随着 PSD-95 和 SYP 的表达异常。PSD-95 作为突触成熟的主要调节因子, 能够与突触后膜上的 N-甲基-D-天门冬氨酸受体 (n-methyl-d-aspartate, NMDA) 受体和  $\alpha$ -氨基-3-羟基-5-甲基-4-异恶唑丙酸受体 ( $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid, AMPA) 受体相互作用, 进而促进突触发育过程。PSD-95 的缺乏可以诱导模型动物的自闭症样行为的发生<sup>[12-13]</sup>。PSD-95 和 SYP 作为突触组分的标记物, 以及参与突触形成和重建的突触可塑性标记物, 它们的表达减少通常意味着突触的丧失<sup>[14-15]</sup>。这也与本实验室前期的发现一致。

在神经元突触发育过程中, Homer1b/c 蛋白还可能在谷氨酸受体介导的信号转导中发挥桥接作用。研究表明, Homer1b/c 的下调可通过 mGluR 影响 mTOR 信号通路的表达并可由此影响神经元突触的发育<sup>[16]</sup>。也有实验发现, Homer1 能够存在于内质网表面, 与 IP3R 共同参与细胞质内钙离子浓度的调节<sup>[17]</sup>, 而这也可能是 Homer1 在异常外界刺激后参与调节突触可塑性的另一途径<sup>[18]</sup>。为进一步观察 Homer1b/c 蛋白与 IP3R、Shank3、mGluR5 蛋白间相互作用的变化, 本研究使用 IF 和 CO-IP 技术进一步观察了相应蛋白在前额叶皮层中的表达和相互作用 (图 2、图 3)。IF 结果显示,  $CTNND2^{-/-}$  自闭症模型鼠与 WT 组小鼠相比较, 其前额叶皮层中 Homer1b/c



蛋白与 IP3R、Shank3、mGluR5 蛋白荧光共定位均呈现减弱的现象(图 2);同时 CO-IP 结果提示, *CTNND2*<sup>-/-</sup> 鼠前额叶皮层中 Homer1b/c 蛋白与 IP3R、Shank3、mGluR5 蛋白间的相互结合均呈现减弱趋势(图 3),与 IF 结果一致。这一结果提示,在 *CTNND2*<sup>-/-</sup> 自闭症模型鼠中,确实存在 Homer1b/c 与 IP3R、Shank3、mGluR5 间复合物形成的减少,这可能是引起神经元突触异常发育和自闭症发生的调节点,但具体作用机制还需后续继续研究。

在中枢神经系统中,突触传递最重要的方式是基于神经递质的神经化学传递<sup>[19]</sup>。近年来研究发现,神经递质在神经系统疾病发病机制中的作用备受关注。目前已有众多研究提示,神经递质的紊乱与 ASD 的核心症状关系密切,被认为在 ASD 的发病机制中扮演了重要的角色<sup>[20]</sup>。本研究通过使用 LC 检测发现, *CTNND2*<sup>-/-</sup> 自闭症模型鼠前额叶皮层中, GABA、Ser、Glu 的含量无统计学意义, His 与 Tyr 的表达则明显增高(图 4)。在通常对自闭症的研究中,往往存在兴奋性神经递质 Glu 的高表达,但本实验中并未观察到此现象的发生,仅发现谷氨酸转运蛋白的低表达(图 4)。这可能与不同自闭症模型展现出的病理改变不同相关, *CTNND2*<sup>-/-</sup> 自闭症模型鼠的病理改变更多表现为突触发育相关蛋白的异常表达和突触可塑性异常。

本研究观察到了 *CTNND2*<sup>-/-</sup> 自闭症模型鼠中 Homer1b/c 这一关键突触后支架蛋白异常低表达, Homer1b/c 与 IP3R、Shank3、mGluR5 蛋白复合物的形成减少,并推测这可能是能够导致突触异常发育的关键靶点,为自闭症的深入研究提出了新的方向。

## 参 考 文 献

- [1] Li XY, Naveed Iqbal Qureshi M, Laplante DP, et al. Decreased amygdala-sensorimotor connectivity mediates the association between prenatal stress and broad autism phenotype in young adults: project Ice Storm[J]. Stress, 2024, 27(1): 2293698.
- [2] Mohapatra AN, Wagner S. The role of the prefrontal cortex in social interactions of animal models and the implications for autism spectrum disorder[J]. Front Psychiatry, 2023, 14: 1205199.
- [3] Xu M, Wang LY, Wang Y, et al. Melatonin ameliorates sleep-wake disturbances and autism-like behaviors in the Ctnnd2 knock out mouse model of autism spectrum disorders[J]. Genes Brain Behav, 2023, 22(4): e12852.
- [4] Wu XQ, Su N, Fei Z, et al. Homer signaling pathways as effective therapeutic targets for ischemic and traumatic brain injuries and retinal lesions[J]. Neural Regen Res, 2022, 17(7): 1454-1461.
- [5] Huang M, Pu SF, Jiang W, et al. Deficiency of SHANK3 isoforms impairs thermal hyperalgesia and dysregulates the expression of postsynaptic proteins in the spinal cord[J]. Neurosci Res, 2021, 163: 26-33.
- [6] Wang ML, Pan W, Xu Y, et al. Microglia-mediated neuroinflammation: a potential target for the treatment of cardiovascular diseases[J]. J Inflamm Res, 2022, 15: 3083-3094.
- [7] Parellada M, Andreu-Bernabeu Á, Burdeus M, et al. In search of biomarkers to guide interventions in autism spectrum disorder: a systematic review[J]. Am J Psychiatry, 2023, 180(1): 23-40.
- [8] Brister D, Rose S, Delhey L, et al. Metabolomic signatures of autism spectrum disorder[J]. J Pers Med, 2022, 12(10): 1727.
- [9] Lominac KD, Oleson EB, Pava M, et al. Distinct roles for different Homer1 isoforms in behaviors and associated prefrontal cortex function[J]. J Neurosci, 2005, 25(50): 11586-11594.
- [10] Zeng X, Pan ZG, Shao Y, et al. SKF-96365 attenuates toxin-induced neuronal injury through opposite regulatory effects on Homer1a and Homer1b/c in cultured rat mesencephalic cells[J]. Neurosci Lett, 2013, 543: 183-188.
- [11] Jung S, Park M. Shank postsynaptic scaffolding proteins in autism spectrum disorder: mouse models and their dysfunctions in behaviors, synapses, and molecules[J]. Pharmacol Res, 2022, 182: 106340.
- [12] Defresne P, Motttron L. Clinical Situations in Which the Diagnosis of Autism is Debatable: An Analysis and Recommendations Situations cliniques ou le diagnostic d'autisme apporte peu : notre analyse, et nos recommandations[J]. Can J Psychiatry Rev Can De Psychiatr, 2021, 67(3): 331-335.
- [13] Coley AA, Gao WJ. PSD95: a synaptic protein implicated in schizophrenia or autism?[J]. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 2018, 82: 187-194.
- [14] Feyder M, Karlsson RM, Mathur P, et al. Association of mouse Dlg4(PSD-95) gene deletion and human DLG4 gene variation with phenotypes relevant to autism spectrum disorders and Williams' syndrome[J]. Am J Psychiatry, 2010, 167(12): 1508-1517.
- [15] Cheng DM, Hoogenraad CC, Rush J, et al. Relative and absolute quantification of postsynaptic density proteome isolated from rat forebrain and cerebellum[J]. Mol Cell Proteomics, 2006, 5(6): 1158-1170.
- [16] Cao L, Tian Y, Jiang Y, et al. Down-regulation of Homer1b/c protects against chemically induced seizures through inhibition of mTOR signaling[J]. Cell Physiol Biochem, 2015, 35(4): 1633-1642.
- [17] Guo ZY, Zhang YH, Xie GQ, et al. Down-regulation of Homer1 attenuates t-BHP-induced oxidative stress through regulating calcium homeostasis and ER stress in brain endothelial cells[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2016, 477(4): 970-976.
- [18] Chen FH, Polsinelli B, Nava N, et al. Structural plasticity and molecular markers in hippocampus of male rats after acute stress[J]. Neuroscience, 2020, 438: 100-115.
- [19] Marchi M, Grilli M. Presynaptic nicotinic receptors modulating neurotransmitter release in the central nervous system: functional interactions with other coexisting receptors[J]. Prog Neurobiol, 2010, 92(2): 105-111.
- [20] Ristori MV, Quagliariello A, Reddel S, et al. Autism, gastrointestinal symptoms and modulation of gut microbiota by nutritional interventions[J]. Nutrients, 2019, 11(11): 2812.

(责任编辑:李青颖)